

University of Groningen

Studies on Superantigens and Antibody Directed Enzyme Prodrug Therapy for Tolerable Targeted Cancer Treatment

Bashraheel, Sara

DOI:

[10.33612/diss.96169444](https://doi.org/10.33612/diss.96169444)

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2019

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Bashraheel, S. (2019). *Studies on Superantigens and Antibody Directed Enzyme Prodrug Therapy for Tolerable Targeted Cancer Treatment*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.96169444>

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Chapter 9: الملخص والرؤية المستقبلية

المخلص والرؤية المستقبلية:

حققت علاجات السرطان المستهدفة للورم ، بما في ذلك العلاج المناعي ، تقدماً هائلاً ، والعديد من الأدوية التي وافقت عليها إدارة الأغذية والعقاقير وغيرها من الوكالات تحت اختبار التجارب السريرية وما قبل السريرية. يصف الفصل الثاني من هذه الرسالة بحثاً في الأدب وإلقاء أضواء على استراتيجيات مختلفة تستهدف الورم ، بما في ذلك استخدام تقارنات العقاقير للأجسام المضادة (ADC) ، وجزيئات كيميائية مستهدفة لتحلل البروتينات (PROTAC) ، ومثبطات نقاط التفتيش ، والعلاج بالسايوتوكانات. ناقشنا أيضاً استخدام السوبرانتجنات المستهدفة للورم (TTS) ، وعلاج الانزيمات الموجة بأجسام مضادة لتحويل عقار غير سام إلى عقار سام في محيط الورم (ADEPT).

في الفصل 3 ، كان الهدف هو الدراسة المباشرة لتأثير السوبرانتجن على الأوعية واستكشاف الآلية التي تسبب بها السوبرانتجن انخفاض ضغط الدم. وأعقب ذلك تحديد المنطقة (المناطق) على السوبرانتجن المسؤولة عن هذه الظاهرة. في البداية ، قمنا باستنساخ وانتاج بروتينات السوبرانتجن بكميات كبيرة من جينات محسنة (Codon Optimized Genes) الخاصة بأربعة أنواع من السوبرانتجن (SEA, SEB, SPEA, TSST-1) للحصول على أقصى كمية انتاج للبروتين في بكتيريا الايكولاي *E.coli*. للتأكد من فعالية السوبرانتجنات المنقاه قمنا باختبارها اولاً على خلايا الجهاز المناعي. فقد اظهرت نتائجنا ان السوبرانتجن ينشط خلايا التائية (T-Cells) وذلك ادى الى انتاج كم هائل من السايوتوكينات منها IL-2 و $IFN\gamma$ ، مما أثبت أنها حافظت على وظيفة السوبرانتجن. وأظهرت السوبرانتجنات الأربعة القدرة على قتل الخلايا السرطانية من خلال تحفيز الجهاز المناعي وبالأخص الخلايا التائية. قمنا بعدها بدراسة تأثير نوعين من السوبرانتجنات SEA و SPEA على الاوعية الدموية وآلية عملها. اظهر عملنا انت كلاً السوبرانتجن يؤديان لتوسع الاوعية الدموية مباشرة وذلك يعتمد جزئياً على اكسيد النيتريك ولكن كلياً على تنشيط قناة ايونات البوتاسيوم K^+ . امتداداً من ذلك قمنا بتصميم 20 جزء من السوبرانتجن SPEA لنتمكن من تحديد المناطق التي تسبب في توسيع الاوعية الدموية. اكتشفنا من خلال عملنا ثلاثة مناطق وظيفية على السوبرانتجن مشاركة في هذا التأثير. تمهد هذه النتائج الطريق لتصميم وانتاج سوبرانتجنات تفتقر المناطق المسببة لتوسع الاوعية الدموية ، وبالتالي قد يقلل ذلك من الآثار الجانبية التي تنتج عن السوبرانتجنات ، والتي يمكن استخدامها كعلاج المناعي آمن مستهدف للسرطان. بالإضافة الى ذلك يمكن دراسة هذه المناطق المؤدية لتوسع الوعية الدموية كدواء خافض للضغط

في الجزء الثاني من الأطروحة ، نقترح حلاً للتغلب على قيود إحدى الاستراتيجيات المستخدمة في علاج السرطان المستهدف ، وهي علاج الانزيمات الموجة بأجسام مضادة لتحويل عقار غير سام إلى عقار سام في محيط الورم (ADEPT). في الفصل 4 ، نجحنا في عزل متغير جديد من إنزيم الجلوكاريبيداز ، Xen CPG2 ، من سلالة *Xenophilus azovorans* SN213. كشفت محاذاة الأحماض الأمينية المترجمة من الإنزيم الجديد 94% تماثل مع إنزيم Ps CPG2 التقليدي. ومع ذلك ، فإن تحليل المناعة ، باستخدام الأجسام المضادة متعددة النسائل التي أثبتت ضد Xen CPG2 ، أشار إلى أن الإنزيم الجديد كان مختلفاً عن المستضد عن إنزيم *Pseudomonas* المستخدم حالياً في ADEPT. لذلك فإننا نقترح استخدام متغيرات CPG2 المعزولة حديثاً ، جنباً إلى جنب مع PS CPG2 التقليدي ، بدلاً من ذلك لتقليل ردود الفعل المناعية للمرضى. لتأكيد النتيجة المذكورة أعلاه ، يمكن تقييم CPG2 المعزولة في هذه الدراسة باستخدام الدم الذي تم جمعه من المرضى الذين عالجوا سابقاً بإنزيم Ps CPG2 ، لتأكيد أن الأجسام المضادة المرفوعة ضد هذا الأخير لا تتفاعل مع إنزيم Xen CPG2. هذا من شأنه أن يعزز اقتراحنا بأن الإنزيمات يمكن أن تستخدم على التوالي في ADEPT .

في الفصل 5 ، استخدمنا PCR المعرضة للخطأ لإنتاج متغيرات CPG2 جديدة بنشاط وفعالية أكبر. على وجه التحديد ، قمنا بفحص مكتبة من أربعة آلاف متغير بقدرتهم على تحليل حمض الفوليك. تم تحديد الجينات المستنسخة التي أظهرت نشاطاً أعلى ، يتضح من خلال اللون الأصفر الداكن للمستنسخات على ألواح أجار تحتوي على مادة الفوليت على أنها أكثر نشاطاً وفعالية من CPG2 الاصل. وتم تحديد تسلسل الحمض النووي وأكد تسلسل الحمض النووي من ثلاث عزلات أن طفرات نقطة واحدة في كل متغير تسبب بدائل الأحماض الأمينية واحدة ، T239A ، I100T ، و G123S. للتأكد من أن اللون الداكن كان بسبب نشاط أعلى وليس مستوى تعبير أعلى للبروتين الفعال ، أجرينا المزيد من الدراسات النشاط والدراسة الحركية باستخدام الميثوتريكسيت كركيزة. وأظهرت عمليات مسح الأقراص المدمجة للهيكال الثانوي للطفرات زيادة في نسبة اللولب ألفا مقارنة بالنوع الاصل. نقترح أن يؤدي ذلك إلى زعزعة استقرار

البروتين ، كما تنبأت بثلاث حزم برمجية للتنبؤ بالاستقرار ، وبالتالي زيادة نشاطها. يمكن القيام بعمل مستقبلي لدمج اثنين أو ثلاثة من الطفرات الفردية في جين واحد ودراسة ما إذا كانت الطفرات مجتمعة تؤدي إلى متغيرات إنزيم مع نشاط أعلى. بالإضافة إلى ذلك ، يجب إجراء دراسة في الجسم الحي لإثبات أن المتغيرات الجديدة يمكنها مسح الميثوتريكسيت بشكل أسرع من الاصل.

في الفصل 6 ، أنتجنا نوعين مختلفين من CPG2 في محاولة للتغلب على مشكلة المناعة في ADEPT. أجرينا PEGylation من Xen CPG2 وأنتجنا بنجاح شكل PEGylated من الانزيم ، PEG-CPG2. وإيضاً قمنا باقتراحه ب HSA ، لانتاج HSA-CPG2. حافظت كل من المتغيرات الجديدة ، PEG-CPG2 و HSA-CPG2 ، على نشاط إنزيم CPG2 ولكن مع قابلية ذوبان أفضل. تمت تنقية البروتينات المعدلة واختبارها من أجل دراستي مدى الاستقرارها وتأثيرها على خلايا المناعة. زاد كل من PEG و HSA من نصف عمر المصل ل-CPG2. أظهر اختبار المناعة أن PEG-CPG2 كان له تأثير مناعي مخفض على الخلايا أحادية النواة للدم المحيطي (PBMCs) مقارنة مع CPG2 لوحده. وبالتالي ، فإن هذا العمل يمهّد الطريق لإجراء تجارب على الحيوانات وإيضاً إجراء التجارب السريرية باستخدام أشكالنا المعدلة الجديدة من CPG2 لعلاج السرطان وإزالة الميثوتريكسيت الفائض.

باختصار ، ADEPT هي تقنية فعالة في علاج السرطان المستهدف. ومع ذلك ، لم يتلق هذا المجال اهتماماً كاف من مصانع الأدوية مقارنةً ، على سبيل المثال ، بعلاج ADC. أنتجت النتائج الواردة في هذه الدراسة بنجاح العديد من المشتقات الجديدة ، والتي قد تتغلب على مشاكل المناعة التي تعيق علاج ADEPT ، وبالتالي قد تثير المزيد من الانتباه إلى إمكانيات ADEPT في العيادة. من ناحية أخرى ، تقوم السوبرانتجات بتنشيط الخلايا التائية للجهاز المناعي بشكل غير خاص ، مع إنتاج كميات هائلة من السيتوكينات المختلفة. هذا يجعلها جذابة للغاية للعلاج المناعي للسرطان. ومع ذلك ، فقد تم إجراء مثل هذه العلاجات بتكلفة عالية من الآثار الجانبية التي تهدد الحياة ، مثل انخفاض ضغط الدم الحاد. النتائج الجديدة الموضحة في هذا العمل ، على سبيل المثال تحديد المنطقة (المناطق) في السوبرانتجن التي تسهم في انخفاض ضغط الدم ، قد تؤدي إلى إنتاج بدائل جديدة من السوبرانتجن مع آثار أقل أو بدون انخفاض ضغط الدم ، من أجل العلاج المناعي للسرطان. من المحتمل أيضاً أن تفتح هذه الدراسات بوابة البحث لإنتاج سوبرانتجن أكثر أماناً لعلاج الورم المستهدف.

